

## **DE3141498**

Publication Title:

Pharmaceutical containing kallikrein and process for its preparation

Abstract:

Abstract of DE3141498

The present invention relates to pharmaceuticals which contain 79 to 99.7% by weight of lactose and, where appropriate, ancillary substances customarily used in the formulation of pharmaceuticals, and to a process for the stabilisation of kallikrein in which kallikrein and lactose are dissolved in water or a water/solvent mixture, where appropriate with the addition of phosphate as buffer, and subsequently the resulting solution is freeze- or spray-dried. Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

---

Courtesy of <http://v3.espacenet.com>

(10) BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

(12) Offenlegungsschrift  
(11) DE 31 41 498 A 1

(5) Int. Cl. 3:  
C 12 N 9/96  
A 61 K 37/553

(7) Anmelder:  
Bayer AG, 5090 Leverkusen, DE

(21) Aktenzeichen:  
P 31 41 498.2  
(22) Anmeldetag:  
20. 10. 81  
(23) Offenlegungstag:  
28. 4. 83

(27) Erfinder:  
Luchtenberg, Helmut, Dr., 5300 Bonn, DE; Arens, Alfred,  
Dipl.-Chem. Dr., 5600 Wuppertal, DE; Kutzbach, Carl,  
Dipl.-Chem. Dr., 5600 Wuppertal, DE

Offenlegungsschrift

(64) Arzneimittel enthaltend Kallikrein und Verfahren zu seiner Herstellung

Die vorliegende Erfindung betrifft Arzneimittel, die 79 bis 99,7 Gew.-% Lactose sowie ggf. übliche bei der Formulierung von Arzneimitteln verwendete Hilfsstoffe betreffen, sowie ein Verfahren zur Stabilisierung von Kallikrein, wobei Kallikrein und Lactose in Wasser oder einem Wasser-Lösungsmittel-Gemisch, ggl. unter Zusatz von Phosphat als Puffer, aufgelöst und anschließend die erhaltene Lösung gefrier- oder sprühgetrocknet wird.  
(31 41 498)

DE 31 41 498 A 1

DE 31 41 498 A 1

120-10-61

3141498

- 8 -

Patentansprüche

1. Arzneimittel enthaltend Kallikrein und 99,7 bis 79 Gew.-% Lactose sowie gegebenenfalls übliche bei der Formulierung von Arzneimitteln verwendete Hilfsstoffe.  
5
2. Arzneimittel nach Anspruch 1, enthaltend Phosphat als Puffer.
3. Arzneimittel nach Anspruch 1 oder 2, enthaltend Mono- und/oder Diphosphate in Mengen von 0,05 bis 10 0,5 mg/100 Kallikrein-Einheiten.
4. Verfahren zur Stabilisierung von Kallikrein, dadurch gekennzeichnet, daß man Kallikrein und Lactose in Wasser oder in einem Wasser-Lösungsmittel-Gemisch, gegebenenfalls unter Zusatz von Phosphat als Puffer, auflöst und anschließend die erhaltene Lösung gefrier- oder sprühtrocknet.  
15
5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß man die Lösung vor der Trocknung steril-filtriert.
- 20 6. Kallikrein stabilisiert durch einen Zusatz von Lactose.
7. Verwendung von Kallikrein und 99,7 bis 79 Gew.-% Lactose sowie gegebenenfalls übliche Hilfsstoffe.

3141498

- 1 = 2 -

bei der Herstellung von Arzneimitteln.

8. Verwendung von Lactose zur Stabilisierung von Kallikrein.

20.10.81

3141498

-3-

BAYER AKTIENGESELLSCHAFT

5090 Leverkusen, Bayerwerk

Zentralbereich

Patente, Marken und Lizenzen Je-by-c

19. Okt. 1981

Arzneimittel enthaltend Kallikrein und Verfahren zu  
seiner Herstellung

---

Die Erfindung betrifft Arzneimittel enthaltend Kallikrein,  
stabilisiertes Kallikrein und Verfahren zu deren Her-  
stellung.

Es ist bekannt, hochwirksame Enzyme durch trockene  
5 Mischung mit inerten Hilfsstoffen in eine für pharma-  
zeutische Zwecke handhabbare Verdünnung zu bringen,  
dabei treten jedoch Nachteile auf, die insbesondere  
die Homogenität der so hergestellten Mischungen be-  
treffen.

10 Es ist ebenfalls bekannt, enzymhaltige Lösungen mit  
inerten Hilfsstoffen in Kaltgase einzusprühen, die  
ausgefrorenen Tröpfchen einem Vakuum auszusetzen und  
auf diese Weise solche Enzyme in Mischung mit dem  
inerten Hilfsstoffen zu trocknen. Diese Verfahren  
15 sind jedoch für pharmazeutische Zwecke nicht ein-  
setzbar, da das Produkt mit dem Kühlmittel in Be-  
rührung kommt und sich daraus Reinheitsprobleme er-  
geben können. Zum anderen ist ein derart aufwendiges

Le A 20 590

Verfahren für pharmazeutische Zwecke unwirtschaftlich.

Schließlich wird in der DE-AS 2 140 747 ein Verfahren zum Mischen von festen biologischen Stoffen mit anderen festen Stoffen beschrieben. Der biologische Stoff wird 5 dabei zusammen mit einem zur Trockne sublimierbaren Zucker in einem wässrigen Lösungsmittel aufgelöst. Anschließend erfolgt eine Gefriertrocknung der so erhaltenen Lösung.

Es wurde nun gefunden, daß man hochwirksames Kallikrein durch gemeinsames Auflösen mit Lactose in Wasser 10 oder in einem Wasser-Lösungsmittel-Gemisch, gegebenenfalls unter Zusatz eines Puffers, und anschließendes Gefrier- oder Sprühtrocknen stabilisieren und in hohe Verdünnungen bringen kann.

15 Demgemäß betrifft die Erfindung Arzneimittel enthaltend Kallikrein und Lactose sowie gegebenenfalls Phosphat als Puffer und gegebenenfalls übliche bei der Formulierung von Arzneimittel verwendete Hilfsstoffe.

Puffer, vorzugsweise Phosphate, können in der Mischung 20 in Mengen von 0,1 bis 2 Gew.-% enthalten sein. Bevorzugt werden Natriummono- und/oder -diphosphat in Mengen von 0,05 bis 0,5 mg/100 KE eingesetzt.

Lactose liegt in den erfindungsgemäßen Arzneimitteln in einer wesentlich höheren Konzentration als das Kallikrein 25 vor. Bevorzugt enthalten die Arzneimittel 79 bis 99,7 Gew.-% Lactose und 0,2 bis 20 Gew.-% Kallikrein sowie gegebenenfalls 0,1 - 2 Gew.-% eines Puffers, vorzugsweise Phosphat.

Das Mengenverhältnis von Lactose zu Kallikrein liegt bevorzugt zwischen 15 bis 25 Kallikreineinheiten (KE) pro mg Mischung. Lactose wird besonders bevorzugt in Konzentrationen von 85 bis 99 Gew.-%, bezogen auf das

5 Kallikrein eingesetzt.

Das gefrier- oder sprühgetrocknete Produkt wird gesiebt und kann aufgrund des hohen Verdünnungsgrades leicht zu verschiedenen pharmazeutischen Produkten, besonders bevorzugt zu Tabletten, weiterverarbeitet werden. Durch

10 den speziellen Einsatz von Lactose wird die enzymatische Aktivität des Kallikreins über einen langen Zeitraum stabilisiert. Der Gehaltsabfall des Produktes ist um den Faktor 10 besser im Vergleich zum reinen Kallikrein bei

Lagerung unter vergleichbaren Bedingungen (siehe

15 Fig. ).

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Stabilisierung von Kallikrein, das darin besteht, Kallikrein und Lactose in Wasser oder

in einem Wasser-Lösungsmittel-Gemisch, gegebenen-

20 falls unter Zusatz von Phosphat als Puffer, aufzulösen und anschließend die erhaltene Lösung gegebenenfalls nach Sterilfiltration gefrier- oder sprühzutrocknen.

Ferner ist die Verwendung von Kallikrein mit 99,7 bis 79 Gew.-% Lactose sowie gegebenenfalls übliche Hilfs-

25 stoffe bei der Herstellung von Arzneimitteln und die Verwendung von Lactose zur Stabilisierung von Kallikrein noch Gegenstand der Erfindung.

- 4 - 6 -

In der Figur ist die Abnahme der enzymatischen Aktivität bei einer Lagerungstemperatur von 65°C, bezogen auf den Anfangsgehalt in %, (Ordinate) gegen die Zeit in Tagen (Abszisse) aufgetragen. Es bedeuten darin:

5 Kurve 1: Kallikrein (+ ggf. Puffer) + Lactose (13,3 KE/mg)  
Kurve 2: Reinkallikrein + Lactose (10,5 KE/mg)  
Kurve 3: Kallikrein (121,1 KE/mg)  
Kurve 4: Reinkallikrein (743 KE/mg)

Das erfindungsgemäße Verfahren hat den Vorteil, daß hiermit besonders homogene, feste Mischungen aus Kallikrein und Zucker herzustellen sind. Ein weiterer Vorteil liegt darin, daß mit dem erfindungsgemäßen Verfahren Kallikreine unterschiedlicher enzymatischer Aktivitäten auf einen konstanten Gehalt eingestellt werden können, was die Weiterverarbeitung zu pharmazeutischen Darreichungsformen wesentlich erleichtert.

Die kallikreinhaltigen Mischungen können in einem entsprechend der notwendigen Dosierung und des genauen Gehaltes erforderlichen Mengenanteil zu einem pharmazeutischen Granulat gemischt und diese Mischung anschließend zu Tabletten verpreßt werden

Die kallikreinhaltige Mischung kann auch in sterilisiertem Wasser gelöst und in einer erforderlichen Menge in sterilisierten Ampullen gefriergetrocknet werden. Die Ampullen werden nach erfolgter Trocknung zugeschmolzen.

3141498

- 8 - 7 -

Beispiel 1

Es wird Kallikrein Wirkstoff eingesetzt mit einer enzymatischen Aktivität von 50 - 1400 KE/mg. Eine Menge entsprechend der gewünschten Verdünnung wird  
5 in Wasser gelöst (z.B. 17 Mio KE in 1 l Wasser). Diese Lösung wird mit einer erkalteten wässrigen Lösung von ca. 0,8 kg Lactose und 8,5 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> in 3 l Wasser gemischt. Die vereinigten Lösungen werden durch ein Membranfilter steril filtriert, anschließend tief-  
10 gefroren und unter den üblichen Bedingungen in einem Gefrieretrockner über einen Zeitraum von ca. 42 Stunden getrocknet, wobei die Temperatur des Produktes -14°C nicht übersteigt. Die Endtrocknung erfolgt bei Raumtemperatur. Die Produkttemperatur wird mit einem Thermistor  
15 überwacht und entsprechend geregelt. Nach Beendigung der Trocknung wird das Produkt durch ein Sieb mit 0,8 mm lichter Maschenweite gesiebt und in luft- und feuchtigkeitsdichte Behälter verpackt.

Beispiel 2

20 Der oben beschriebene Kallikrein - Lactose - Puffer-Lösung wird 1 g Dinatriumethylendiamidtetraacetat zugesetzt. Die Lösung wird in einen Sprühturm gesprührt mit 120°C Zulufttemperatur. Die Produkttemperatur beträgt maximal 60°C. Die Vorlage hinter dem Luftabscheider wird  
25 kontinuierlich gewechselt und das Produkt rasch abgekühlt.

8-  
Leerseite

20.10.  
-9-  
Nummer: 314143  
Int. Cl. 3: C12N 9/23  
Anmeldetag: 20. Oktober 1981  
Offenlegungstag: 28. April 1983

1/1

